Aus der Frauenklinik der Universität Erlangen
Direktor: Professor Dr. Dr. Hermann Wintz

Die Färbemethoden der Krebszellen

mit einer kritischen Uebersicht und Versuch der Auffindung einer neuen spezifischen Färbemethode

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen

vorgelegt von

Ludwig Ritter und Edler von Rauffer
aus München

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Oktober 1935

Buchdruckerei Max Döres, Erlangen, Rückertstraße 1
1936

1936/380

Referent: Univ.-Prof. Dr. Hermann Wintz

Dekan: Geh. Rat Univ.-Prof. Dr. Fr. Jamin

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Wohl kaum gibt es in der Medizin ein Gebiet, das mehr umstritten ist, als das des Krebsproblems, oder besser allgemein gesagt, als das der bösartigen Neubildungen. Trotz eines sehr umfangreichen Schrifttums für jede einzelne Frage, trotz ungeheuerer darauf verwendeter Arbeit kann wohl in keinem einzigen Punkte von einer endgültigen Lösung gesprochen werden. In keinem Gebiete der pathologischen Anatomie gehen auch die Meinungen der Autoren so auseinander wie gerade bei den Fragen, die das Krebsproblem berühren. Bostroem (4) hat sogar im Jahre 1928 die sicher richtige Anschauung über das autonome Wachstum des Krebses aus einer Zelle heraus entschieden angefochten.

Alle Versuche rein morphologisch den spezifischen Charakter der Geschwulstzellen zu bestimmen sind ebenfalls fehlgeschlagen und so glitten besonders in den letzten Jahren alle Untersuchungen ins Biologische hinüber. Es sind diese Forschungen zwar begrüßenswert, aber letzten Endes muß doch das Studium der Gewächszellen in erster Linie stehen, da ja schließlich das Krebsproblem nach Ansicht einer überwiegenden Mehrzahl der Autoren ein cytologisches ist.

Eine übersichtliche Darstellung aller dieser das Studium der Krebsätiologie betreffenden Schwierigkeiten hat vor einigen Jahren James Ewing auf der internationalen Krebskonferenz in London gegeben und darauf hingewiesen, daß während klinische Beobachtungen und experimentelle Untersuchungen uns über die verschiedenartigen den Krebs auslösenden Reize vielfach genauen Aufschluß gebracht haben, die eigentliche Frage der Natur des Blastomprozesses aber nur geringe Fortschritte gemacht hat. Ewing meint sogar: that the problem of the nature of the tumor is at present unsolvable.

Wenn man nun bei diesem Stande der ätiologischen Krebsforschung es versucht unbeschwert von Ueberlieferungen und derzeit vorherrschenden Meinungen und ohne die Flut der Hypothesen zu berücksichtigen auf Grund eigener Beobachtungen und Studien zur Frage der Geschwulstätiologie Stellung nimmt, so soll das Endergebnis natürlich nicht nur auf einer überflüssigen Vermehrung der zahlreichen bisher vorliegenden Theorien hinauslaufen, sondern auf der Grundlage tatsächlicher objektiv feststellbarer Befunde beruhen.

Fragestellung und Arbeitsmethodik sind auch hier wie bei jedem wissenschaftlichen Problem von grundlegender Bedeutung. Von der Ansicht ausgehend, daß auf dem Boden der Geschwulstzelle selbst die meiste Aussicht besteht zu einer Klärung des Wesens der Blastome zu kommen, wird das mikroskopische Studium der Geschwulstzelle und deren färberische Darstellung in den Mittelpunkt der Forschung gerückt werden müssen.

Lipschütz (13) hat bereits in den Jahren 1928 und 1929 seine Arbeiten auf ähnlichen Grundsätzen aufgebaut und versucht der Cytologie der Krebszelle näherzukommen. Wenn auch Fischer-Wasels (7) mit vielen anderen Autoren behauptet, daß es uns nicht gelänge mit keiner der zur Verfügung stehenden histologischen Methoden irgendwie das Charakteristikum der Geschwulstzelle auf histologischem Wege darzutun, so muß dem entgegengehalten werden, daß die Geschwulstzelle bisher noch wenig Gegenstand der Untersuchung mit einer exakten cytologischen Arbeitsmethodik gewesen ist.

Insbesondere sind heute die Versuche einer Prognosestellung, sowie einer sicheren Diagnose abgesehen von günstigen makroskopisch erkennbaren aber bei weitem nicht immer zuverlässigen Faktoren, noch völlig auf das mikroskopische Bild angewiesen. Neben anderen Faktoren ist für die Prognosestellung und für den Verlauf einer malignen Geschwulst der histologische Sondercharakter nicht ohne Belang, ob es sich um ein wohldifferenziertes Adenocarzinom oder um die einseitigen Entartungsformen des wuchernden Markschwammes oder des schleichenden Szirrhus handelt. Das Adenocarzinom verhält sich, wenn es ausreichend entfernt werden kann etwas günstiger, als das medulläre Carzinom, das leider gewöhnlich erst im fortgeschrittenen Stadium beobachtet wird. Der Szirrhus erscheint nur am Anfang, als weniger bösartig, weil er zunächst etwas langsamer wächst und keine großen Geschwülste erzeugt; im weiteren Verlauf ist er wohl der gefährlichste von allen, da seine Wachstumsintensität dauernd zunimmt und da bei ihm die Neigung zum Rezidiv größer ist als bei irgend einer andern Form. Den Gallertkrebs, der auch selten vorkommt, kann man als eine verhältnismäßig gutartige Krebsform bezeichnen. Die Möglichkeit dieser Prognose hat auch wegen der praktischen Bedeutung die Forscher angelockt. Trotz der vielen Arbeiten und Vorschläge hat sich heute noch keine Methode für eine sichere Prognosestellung allgemeine Bedeutung und Anerkennung verschaffen können.

Besondere Beachtung haben die Arbeiten des Amerikaners Broders gefunden, da ihm angeblich die Lösung dieses Problems wenigstens in praktisch erreichbaren Grenzen gelungen ist. Die Arbeiten von Broders waren mir leider nicht zugänglich und so sei mir gestattet mich an die Angaben von Kahlstorf (8) zu halten. Broders geht von dem keineswegs neuen Grundgedanken aus, daß eine Geschwulst um so gutartiger ist, je mehr differenzierte Zellen sie enthalte und unterscheidet nach diesen Prinzipien im histologischen Aufbau der bösartigen Geschwülste 4 Grade. Diese Gradeinteilung hätte jedoch nur Sinn und Zweck, wenn durch die Zelldifferenzierung allein, trotz längeren Bestehens und größerer Ausdehnung des Krebses es gelänge, daß unter Umständen auf eine günstige Prognose und Diagnose mit Sicherheit geschlossen werden kann.

Es erhebt sich nun eine wichtige Frage: Ist es überhaupt möglich aus bestimmten Faktoren den Grad der Malignität einer Geschwulst zu erkennen und daraus eine Diagnose und Prognose für die Lebensdauer des Operierten zu stellen? Die Aufgabe dieser Arbeit ist es, die Kriterien der Krebszellen auf färberischem Wege herauszuarbeiten und festzustellen. Wenn man daraufhin die bestehende Literatur durcharbeitet, so muß man sich eigentlich wundern wie verhältnismäßig wenig auf diesem Gebiete der Krebscytologie gearbeitet worden ist.

Meine Arbeit ist besonders auf 2 Punkte gerichtet, wie aus dem vorhergehenden ersichtlich ist:

Die färberischen Kennzeichen des Krebses:

1. zur Diagnose, besonders Frühdiagnose und Prognose und eventuell
2. zum Unterschied vom Sarkom darzustellen.

Zunächst ist die Tatsache festzulegen, daß es bis heute noch keine spezifische Färbemethodik und Darstellung der Krebszellen gibt. Wenn es nun gelänge auf färberischem Wege einen Krebs aus einer Probeexcision mit Sicherheit zu diagnostizieren, dann wäre hiermit ein außerordentlich wichtiges und heilbringendes Heilmittelt dem Arzt zur Bekämpfung des Ca des einzelnen und damit des ganzen Volkes in die Hand gegeben.

Selbstverständlich wurden nachfolgende bereits angewendete Färbungen von mir zu diesem Zwecke eigens angefertigt und nachkontrolliert. Ich habe mich weiterhin bemüht nur solche Präparate meiner Betrachtung zu unterziehen, welche krebsig

verändertes und zum Vergleich gesundes Gewebe auf dem mikroskopischen Bilde zeigten. Die zur Darstellung der Bilder angewandten Färbungen zeigten nur charakteristische Färbungen des Epithels und Bindegewebes des betreffenden Organes an.

Aus der vergleichsweisen Beobachtung des erkrankten Gewebes mit dem gesunden Gewebe ist es nur möglich, das infiltrierende und destruierende Wachstum der sogenannten Krebszapfen und -netze, die Polymorphie bzw. Anaplasie und den Reichtum und die Abnormität der Kernteilungsfiguren der Krebszellen zu erkennen. Lipschütz (13) hat jedoch durch umfangreiche Versuche bei Hühnersarkomen, Rattensarkomen und besonders bei Carc. solid. mammae des Menschen eine Zellreaktion der Krebszelle, die sog. Plastinreaktion als deutliches Kennzeichen des Ca in den Vordergrund gerückt. Doch gibt Lipschütz in seinen Arbeiten auch ohne weiteres zu, daß diese Reaktion auch oft fehlen kann. Nur in den für eine mikroskopische Untersuchung geeigneten Stellen des verarbeitenden Materials, besonders carzinom. Aszites, ist diese Reaktion mit Sicherheit aufgetreten. Diese Angaben von Liepschütz sollen aber in dem Abschnitt über feuchte „Giemsafärbung", die übrigens neben der einfachen H.E.-Färbung die beste bis heute angewandte Färbemethode für cytologische Zwecke darstellt, weiter unten behandelt werden.

1. P. G. Unnas Methoden:

Zunächst sollen die Methoden von P. G. Unna (23, 24) einer eingehenden Betrachtung unterzogen werden. Von den 3 von ihm angewandten Methoden haben wohl nur die 1. und 3. theoretische, aber ebenso wie die 2. nur wenig praktische Bedeutung.

1. Beobachtung bei Anwendung von Rongalitweiß,
2. Beobachtung bei Anwendung von Permanganat,
3. Beobachtung bei Anwendung von Neutralviolett-extra. (24)

Gr. Roskin (19) hat bereits die Methoden Unnas bei tierischen Geschwülsten verwendet und anscheinend recht brauchbare Ergebnisse erzielt. Er hat sich bei seinen Forschungen jedoch nur auf die Untersuchung von Adenoca.-Zellen der Maus beschränkt und andere pathologische Gewebsveränderungen unberücksichtigt gelassen.

Diese Mikrofarbreaktionen gründen sich auf das Vorhandensein der sog. „Oxydations- und Reduktionsorte" von Unna. (23)

Seine theoretischen Befunde an den Sauerstoff- und Reduktionsorten in der Zelle lauten: „Das universellste Mittel, um O_2 nachzuweisen ist bisher das Rongalitweiß. Es weist auch dort O_2 nach, wo besondere Sauerstoffermente nicht vorhanden sind. Nur eine Bedingung muß erfüllt sein, daß O_2 im Ueberschuß vorhanden ist. Dagegen ist es nicht nötig, daß O_2 aktiviert (—0—0—) ist, es genügt auch molekularer (0=0) im Ueberschuß von der Art, wie er in der Luft und im Wasser vorhanden ist.“ Die Oxydoreduktase LM gestattet es also Krebszellen, welche in normalen Geweben liegen, von diesen zu unterscheiden. Die Richtigkeit der Arbeiten Roskins sehe ich noch bestärkt in den Untersuchungen von Fränkel und Dimitz. (14) Sie nehmen bei Aufbau ihrer Theorie der Gewebeatmung des Krebses durch Intermediärkörper die Existenz von Substanzen ungesättigter Art — Phosphatide — an, die vermöge ihrer doppelten Bindung molekularen Sauerstoff anzulagern imstande sind. Sie glauben bei bösartigen Geschwülsten durch Gegenwart dieser Substanzen die Oxydation, wie auch die Reduktion in den Geweben erklären zu können. Die Untersuchungen von Kollath und Gutstein (14) z. B. beweisen auch die Fähigkeit der Phosphatide den molekular gebundenen Sauerstoff leicht abzugeben. Hausteen Cramer (14) gelang es eine besondere Methodik der Zellphosphatidisolierung zu finden und eine Elektivität der Krebszelle zur Phosphatidspeicherung zu zeigen.

Nach den Feststellungen von Unna sind im gesunden Gewebe gerade die Zellkerne, vermöge ihrer saueren Einlagerungen (Nuclein und Globulin) zur hervorragenden Sauerstofforten geworden. Das Prinzip der Färbung dieser Sauerstofforte besteht nun in ihrer Wirkung auf eine leicht reoxydierbare Leukofarbe, welcher eine stark reduzierend wirkende Substanz als Schutzmittel beigegeben ist. Dieses Schutzmittel genügt nun um die Leukofarbe als solche in das im allgemeinen sauere Gewebe einzuführen, ohne daß bereits eine Reoxydation zur Farbe eintritt.

Während nun Unna diese Verhältnisse in pathologischen unveränderten Geweben gefunden und studiert hat, hat Roskin (79) versucht, diese Methode auf die Darstellung der Krebszelle zu übertragen und daraus weitgehende Schlüsse zu ziehen. Roskin konnte eine Störung der Kernplasmarelation der Krebszelle dadurch nachweisen, daß bei Färbung mit Rongalitweiß das Plasma den Sauerstoffort darstellte, während der Kern farblos blieb. Demnach verhalten sich Kern und Plasma bei dieser Reaktion im gesunden Gewebe gerade umgekehrt wie beim Krebsgewebe.

I. Beobachtung bei Anwendung von Rongalitweiß.

Von Unna, und von Roskin unwesentlich abgeändert, wird für das Studium der Zelle folgende Methode vorgeschlagen:

Von frisch ausgeschnittenen Geschwülsten werden Ausstriche auf dem Objektträger angelegt und für einige Zeit (mehrere Minuten) zum Trocknen gestellt; danach werden sie für 2—3 Minuten in Rongalitweißlösung versenkt, in einer großen Menge gekochten Wassers sorgfältig gespült. Dabei wird das Spülwasser hellblau; die Färbung der Präparate hängt jedoch von diesem angefärbten Wasser nicht ab, wie Kontrollpräparate zeigten. Nach dem Wässern werden die Präparate getrocknet und entweder gleich untersucht oder vorher in Kanadabalsam eingeschlossen und mit einem Deckglase bedeckt. Die nötige Rongalitweißlösung stellt man entweder selbst her oder bezieht sie am besten fertig.

Bei seinen Untersuchungen hat Roskin 3 Typen von verschieden auf das Rongalitweiß einsetzenden Reaktionen beschrieben:

1. Zellen vom Typus A: Form viereckig, Kernplasmarelation nicht oder wenig gestört. Der Kern färbt sich intensiv blau während das Protoplasma eine kaum wahrnehmbare hellblaue Färbung annimmt.
2. Zellen vom Typus B: Form weicht stark ab von der des Typus A, Konturen sind abgerundet, Kernplasmarelation ist gestört, bedeutendes Uebergewicht der Kernmasse über die Protoplasmasubstanz. Intensive Färbung des Protoplasmas, Kern bleibt farblos oder wird nur schwach gebläut.
3. Zellen vom Typus C: Sie nähern sich in ihrer Kontur den Zellen vom Typus B doch sind sie größer als diese. Färbung tritt fast keine ein.

Bei aufmerksamer Untersuchung jedoch erkennt man, daß die eine Zellart von der anderen abzuleiten ist und daß gewisse Zellen als Bindeglieder zwischen den bestehenden Gruppen aufzufassen sind. Das Verhältnis von Typ A : B : C = 1 : 20 (— 30) : 1.

Die Hauptmasse der an Präparaten gefärbten Zellen wird demnach von den eigentlichen Krebszellen bestritten, die dem Typus B angehören.

Roskin hat es aber unterlassen, die Methode der Rongalitweißfärbung auch auf gutartige Geschwülste und pathologisch veränderte Gewebe anzuwenden.

II. Beobachtung bei Anwendung von Kaliumpermanganat.

Die Ausstriche bezw. Schnitte werden in 1 % iger Lösung von $KMnO_4$ 10—15 Minuten gefärbt. Unna färbte mit Permanganat die sog. „Reduktionsorte", die sog. Sauerstofforte werden dagegen nicht dargestellt, d. h. die mit Permanganat gefärbten Präparate verhalten sich zu den mit Rongalitweiß gefärbten wie das Positiv zum Negativ.

Mit Hilfe dieser Färbung sind ebenfalls die 3 Zelltypen festgestellt worden, wenn auch gesagt werden muß, daß diese Färbung bei weitem nicht so demonstrativ ist wie die vorhergehende und die nachfolgende mit Neutralviolettextra.

III. Beobachtung bei Anwendung von Neutralviolettextra.

Ausstriche auf dem Objektträger werden an der Luft getrocknet, der andere Teil durch Erwärmung fixiert. Danach werden die Präparate ca. 10 Minuten in 0,5 % iger wässeriger Neutralviolettextralösung gefärbt, in Wasser gespült, in 96 % igem Alkohol, der einen Teil der roten Farbe entzieht, entfärbt und in Balsam eingeschlossen.

Auch bei dieser Färbung konnten die 3 früher angegebenen Zelltypen gefunden werden. Zellen des Typus A färben sich folgendermaßen: Der Kern wird grellrot, wogegen das Plasma sich grellblau färbt. Bei den Zellen des Typus B wird der Kern blau und das Plasma grellrot. Typus C färbt sich total bläulich.

Nicht nur der Einfachheit halber, sondern um auch eine Verwirrung auszuschließen, seien im Folgenden nur die eigentlichen charakteristischen Tumorzellen vom Typus B berücksichtigt. Stellt man nun eine Uebersicht über diese 3 Färbemethoden zusammen, so ergeben sich folgende Uebereinstimmungen:

1. Die Manganbilder entsprechen dem Blau der Neutralviolettbilder einerseits und
2. Die Rongalitweißbilder dem Rot der Neutralviolettbilder anderseits.

Man hat im Neutralviolettbilde also gleichsam die im Mangan- und Rongalitweißbilde getrennten und sich ergänzenden Farbreaktionen zu einem Gesamtbilde vereinigt und kann

danach schon allein aus dem Blau die Reduktionsorte und aus dem Rot die Sauerstofforte erschließen. Wie früher schon dargetan wurde, sollen nun besonders die Phosphatide, die wiederum gerade bei bösartigen Geschwülsten gespeichert sein sollen, den molekularen und freien O_2 in den Geweben festhalten. Wenn auch Heinlein feststellte, daß das Reduktionsvermögen maligner Tumoren geringer ist, als das normalen Gewebes, so müßte mit den angegebenen Methoden doch eine brauchbare und cytodiagnostisch verwertbare Zelluntersuchung der bösartigen Gewebe gegeben sein.

Es ist nun selbstverständlich, daß zur endgültigen Klärung der cytodiagnostischen Spezifität der Reaktion mit Rongalitweiß und der beiden anderen Färbungen, noch untersucht werden muß, wie diese Reaktionen mit Zellen gutartiger Geschwülste verlaufen und ob eine negative Reaktion auch bei anderen pathologischen Zuständen beobachtet wird.

Zur Nachprüfung der Untersuchungen von Roskin habe ich sowohl Ausstriche als auch Schnitte von frisch operierten Geschwülsten verwendet. Aelteres formolfixiertes Material ist für diese Untersuchungen unbrauchbar, da durch die Formolwirkung bereits die Sauerstofforte zerstört sind und nur ungenügende und unsichere Resultate erzielt werden können, wie es sich bei Anfertigung und Untersuchung solcher Präparate zeigte. Die Zellen nahmen lediglich einen Farbton an, der nur schwache Nuancen innerhalb desselben Schnittes aufwies.

Auch das von mir lebendfrisch untersuchte Material enttäuschte mich in mancher Beziehung. Das mikroskopische Bild zeigte keine klaren Verhältnisse weder mit Rongalitweiß noch mit Neutralviolettextra.

1. Rongalitweiß: Es hat sich wohl herausgestellt, daß im Vergleich zu einem Methylenblaupräparat wesentliche Farbunterschiede vorhanden waren, besonders in Beziehung auf die Zellfärbung. Eine Kernfärbbarkeit zeigte sich bei Rongalitweiß nicht, während das Methylenblaupräparat deutlich dunkelgefärbte Kerne in den Zellen erkennen ließ. Das Protoplasma zeigt einen hellblauen Farbton, der besonders am Rand der Zellen intensiver zum Vorschein kam. Das Gesamtbild des Gewebes ist nur schlecht infolge des Mangels an Kontrastwirkung zu erkennen.

2. Neutralviolettextra: Auch hier hat sich die angegebene scharfe Kontrastwirkung nicht bestätigt. Die Kerne sind zwar durchwegs blau, doch konnte ich die grellrote Färbung des Protoplasmas nur an wenigen Stellen bestätigen. Da nun dieses

Verfahren, wie auch Roskin zeigen konnte, speziell bei Geschwülsten umgekehrte Verhältnisse wie beim normalen Gewebe zeigte, sehe ich hierin wohl eine Möglichkeit dem Unterschied zwischen Geschwulst und normalem Gewebe näher zu kommen. Nach diesen Untersuchungen sind also Reduktions- und Sauerstofforte beim Krebsgewebe vertauscht. Die Untersuchung anderer gutartiger Geschwulstgewebe (Myom, Adenom) haben keine wesentlichen Unterschiede in der Färbbarkeit gegenüber dem Krebsgewebe gezeigt. Schließlich ist auch das Vorhandensein von Reduktions- und Sauerstofforten bei gutartigen Geschwülsten mit demselben Recht anzunehmen wie bei den bösartigen Tumoren. Leider war es mir nicht möglich auch andere nicht vorbestrahlte bösartige Tumoren zu verarbeiten. Wahrscheinlich ist durch die Röntgenbestrahlung eine Verschiebung oder teilweise Vernichtung von Sauerstoff- und Reduktionsorten anzunehmen.

Zusammenfassend kann ich bemerken, daß die Ergebnisse vorstehender Reaktion wohl auf Grund vorheriger Röntgenbestrahlung nicht eindeutig bestätigt werden konnten. Ferner glaube ich auch nicht, daß die Methode wegen ihrer Unsicherheit eine größere praktische Bedeutung erringen wird, da ja auch Unterschiede zu den gutartigen Tumoren fehlen. Die kritische Betrachtung des mikroskopischen Bildes dieser Methode ergibt fernerhin, daß weder auf eine etwaige Prognose — noch sichere Diagnosestellung — zum Vorteil des Patienten geschlossen werden kann. Heute stehen uns noch andere Methoden zur Verfügung, die diese Färbung weit in den Hintergrund stellen. Ich habe diese Methoden hier angeführt, weil sie doch theoretisch nicht von geringem Interesse sind und auch zur Chemie und Biologie der Krebszelle interessante Beiträge bringt.

2. Cholesterinnachweis nach Schultz:

Im Stoffwechsel der Krebszelle hat nach den Arbeiten Warburgs über die Kohlehydrate in der Krebszelle besonders in jüngerer Zeit das Verhalten der Lipoide, vornehmlich das Cholesterin interessiert, wie überhaupt die Biochemie dieses Lipoids eine große Zahl von Forschern beschäftigt hat.

Nachdem es im Jahre 1924 Schultz (24) gelungen war, das Cholesterin in cholesterinhaltigen Geweben auf histochemischem Wege nachzuweisen, konnte Burgheim (3) 1928 das Cholesterin, ausgehend von einer Beobachtung, die sich bei Röntgenbe-

strahlung von Ca-Geweben zeigte, im Krebsgewebe darstellen. Bei seiner Beobachtung zeigte sich, daß der Cholesteringehalt des Blutes bei Bestrahlung immer mehr stieg, während nach Entfernung der Tumoren die Bestrahlung keinen Einfluß mehr auf den Cholesteringehalt des Blutes zeigte. Hierbei handelt es sich wohl um die Folgen des Krebsgewebszerfalls bei Bestrahlung. Burgheim fand auch, daß das den bösartigen Tumor umgebende gesunde Gewebe ebenfalls Cholesterin enthalten kann, sodaß nach Rondoni (18) ein praecanceröses Stadium nachzuweisen wäre, ehe noch das histologische Bild ein Krebsgewebe erkennen läßt. Die Arbeiten Burgheims werden von Roffo (17) bestätigt, der neben der Hypercholesterinaemie in bösartigen Tumoren auf einen zehnfachen Fettsäurehaushalt in der Umgebung des Neoplasmas hinweißt.

Wenn auch einige Forscher dem Wert des Cholesterinnachweises für Krebsgewebe etwas skeptisch gegenüber stehen, so muß dem doch der schlagende Erfolg entgegengehalten werden, den Burgheim (3) und besonders Chahovitch (5) erzielen konnten. Ersterer hatte an 10 bösartigen und 10 gutartigen Geschwülsten den Wert der Reaktion bestätigen können. Chahovitch (5) hatte an mehr als 70 Präparaten das Auftreten der Reaktion bei Krebsgeweben nachweisen können, während alle gutartigen Tumoren ein negatives mikroskopisches und makroskopisches Bild zeigten. Seine Versuchsergebnisse sind am besten folgendermaßen zusammenzufassen:

1. Die Reaktion ist negativ bei allen gutartigen Tumoren.
2. Sie ist positiv, wenn auch in schwankendem Maße, in allen Ca-Fällen.
3. Sie ist bei der überwiegenden Zahl von Sarkomfällen negativ.

Die Technik zur Herstellung der Präparate nach Schultz (20) ist sehr einfach. Gefrierschnitte von formolfixiertem Material (möglichst nach Gelatineeinbettung) werden in dünnen Formalin mindestens 4 Tage lang intensivem Tageslicht bezw. Sonnenlicht ausgesetzt. Auffangen der Schnitte aus Wasser. Sorgfältiges Antrocknen mit Fließpapier auf dem Objektträger. Beschicken des Schnittes mit einigen Tropfen eines Gemisches, das aus Eisessig und conc. reiner Schwefelsäure zu gleichen Teilen besteht. (H_2SO_4 tropfenweise zugeben!) Deckglas aufdecken. Nach wenigen Minuten ist die Reaktion voll ausgebildet. Die cholesterinhaltigen Gebilde treten in tiefblauer Farbe hervor. Die Präparate sind nur einige Stunden haltbar.

Statt der Einwirknng des Sonnenlichtes kann man auch eine Beizung des Präparates mit einer 2,5 % igen Eisenschwefelammoniumlösung (etwas Formalin zusetzen!) anwenden, wobei die Gewebsschnitte 3 Tage im Brutschrank bei 37 Grad verweilen. Darnach abspülen der Schnitte im Wasser und Weiterbehandlung mit dem Schwefelsäure-Eisessiggemisch.

Die Beizung kann auch, in demselben Umfange wie das Sonnenlicht, durch eine mehrstündige Bestrahlung der Präparate mit künstlicher Höhensonne ersetzt werden. Die Beizpräparate weichen nur in der Farbnuance von den Lichtpräparaten ab, d. h. letztere geben ausgesprochen blauviolette und die Beizpräparate blaugrüne Farbtöne.

Der positive Ausfall dieser Reaktion ist jedoch lediglich an die Gegenwart von Oxycholesterin gebunden. (21) Windaus, Lifschütz und schließlich Schultz haben darüber eingehende Versuche angestellt, sodaß die Farbbildung an die Anwesenheit von Oxycholesterin als wahrscheinlich anzusehen ist. Somit wäre also nur das Oxycholesterin dem mikrochemischen Nachweis zugänglich. Daher ist es notwendig das Cholesterin durch geeignete Vorbehandlung (Belichtung, Beizung) in Oxycholesterin überzuführen.

Soweit die Ergebnisse, die Burgheim, Schultz und Chahovitch erzielen konnten.

Um aber diese Methode auch in der Praxis mit Erfolg verwenden zu können muß eine wichtige Vorbedingung gegeben sein. Wie schon am Anfang betont wurde ist es erst gelungen das Cholesterin nach vorangegangener Röntgenbestrahlung im Carzinomgewebe nachzuweisen. Da aber nicht in allen Kliniken und besonders nicht in der allgemeinen Praxis mit Bestrahlung der Geschwülste die Therapie eingeleitet wird, verliert diese Methode einen großen Teil ihres praktischen Wertes. Ferner habe ich mich in einer langen Versuchsreihe von einwandfreiem Krebsmaterial überzeugen können, daß die Ausbildung der Reaktion an gewisse Schwierigkeiten, besonders bei Mammacarzinomen, gebunden ist und hier nur selten zur vollen Entwicklung gelangt. Auch Burgheim hat schon früher auf diese Tatsache hingewiesen und glaubt das Vorhandensein von zuviel Neutralfett als Ursache für das Ausbleiben der Reaktion anschuldigen zu müssen. Wahrscheinlich sind auch auf den hohen Gehalt an Neutralfetten die vielen Fehlversuche, die Kimmelstiehl (9) veranlaßten diese Reaktion stark anzuzweifeln und von einer nicht chemisch einwandfreien Methode zu sprechen,

zurückzuführen. Schultz (21) hat jedoch diese Zweifel widerlegt und Kimmelstiehl hat auch dann später die Genauigkeit der Reaktion anerkannt. In Unkenntnis dieser Feststellung habe ich mich bemüht bei Mamma-Carzinomen genau die Technik von Schultz und Chahovitch einzuhalten und kam auch zu wenig ermutigenden Ergebnissen, die ich im Folgenden kurz zusammenfassen möchte.

Nur selten war es mir möglich in einem Mammapräparat die Ausbildung der Reaktion zu verfolgen und dann auch nur verschwommen und unklar. Eine leichte hellblaue bezw. hellviolette Färbung der Präparate besonders nach Beizung und Bestrahlung konnte ich feststellen. Doch zeigte sich diese Verfärbung ebenfalls bei gutartigen Tumoren und durfte wohl auf eine starke Wasserentziehung des Gewebes durch die Schwefelsäure zurückzuführen sein. Bei makroskopischer vergleichsweiser Betrachtung von einem gebeizten, einem bestrahlten und einem unbehandelten Schnitt des gleichen Tumors, nach Zusatz von Eisessig-Schwefelsäuregemisch, zeigte sich eine deutliche Violettfärbung des gebeizten, eine schwache Blaufärbung des bestrahlten und eine gelbliche Färbung des unbestrahlten Schnittes.

Bei der mikrochemischen Untersuchung eines Ovarialcarzinoms aber konnte ich deutlich und in schöner Ausbildung die blaue Cholesterinreaktion studieren. Die verwendeten Präparate waren vorher 4 Stunden lang mit Höhensonne bestrahlt. Soweit es am ungefärbten Schnitt überhaupt möglich war, das Stroma vom Parenchym zu unterscheiden, konnte ich feststellen, daß die Ausbildung der Reaktion nur auf die einzelnen Zellen beschränkt blieb und das Stroma unberührt ließ. Die Struktur der Kerne war deutlich zu erkennen und zeigte eine Blaufärbung seines Gerüstes. In derselben Weise reagierte auch das Protoplasma der Zellen. Ein zugleich von mir untersuchtes Ovarialsarkom ergab ein negatives Ergebnis wie auch alle von mir untersuchten gutartigen Geschwülste.

Wenn es nun gelänge auch durch Bestrahlung t o t e n Carzinomgewebes das Cholesterin aus den zerstörten Zellen frei zu machen und durch Ueberführung in Oxycholesterin dann nachzuweisen, und wenn wir eine Möglichkeit hätten das Neutralfett aus dem Mammagewebe bezw. aus allen Carzinomgeweben zu eliminieren, sodaß das Cholesterin unbeschadet bleibt, dann wäre gegen die Ausführungen dieser Methode nichts mehr einzuwenden, denn die Ausbildung dieser Reaktion ist ein mikrochemisch faßbarer Unterschied zwischen gutartigen und bösartigen Geweben einerseits und zwischen Carzinom und

Sarkom andererseits. Wenn nun Rondoni (18) aber meint den praecancerösen Zustand durch den Cholesterinnachweis zu diagnostizieren, so glaube ich, daß er die Grenzen des Applikationswertes der Schultzschen Cholesterinfärbung zu weit gezogen hat, da die Anwendung dieser Methode insofern gar nicht in Frage kommt, als der Praecancer, wenn man überhaupt davon sprechen kann, keine äußerlichen Erscheinungen macht und somit nicht zur Untersuchung gelangt.

3. Alizarinfärbung nach Bauer:

Die mikrochemische Alizarinfärbung (1) ist nicht ganz leicht zu handhaben, da aus der alkoholischen Alizarinlösung allzu leicht Kristalle von Natrium sulfuric. ausfallen und oft zu unliebsamen Verwechslungen führen können. Bauer hat selbst früher die ausgefallenen gelben Kristalle für Cholesterin (1) gehalten und glaubte eine Methode zur Cholesterindarstellung gefunden zu haben. Er sagt von seiner Methode: „Der Reiz der Methode liegt darin, mit ihr sowohl in den Aufbau der Gewebselemente als auch gleichzeitig in ihren Chemismus einzudringen.“ Bauer hat seine Färbung als charakteristisch für Zellen bösartiger Geschwülste bezeichnet, da die in Wucherung begriffenen Geschwulstzellen sich auffallend tief dunkelviolett färbten und außerordentlich scharf von den saueren gelb gefärbten Formelementen abhoben. Diese bösartigen Geschwulstzellen zeichnen sich demnach durch sehr hohe Alkaleszens aus, die im Wesentlichen auf dem hohen Magnesiumgehalt der Zelle beruhen soll. Durch frühere Untersuchungen hat Bauer angeblich feststellen können, daß Alizarin zum Nachweis von Magnesium geeignet ist und dieses tief violett färbt.

Für eine zuverlässige Anwendung der Methode müssen gewisse Kautelen geschaffen sein:

Die zu untersuchenden Objekte dürfen nur mit Gegenständen berührt werden, welche selbst keine sauere oder alkalische Eigenreaktion besitzen. Die Objektträger sind mit Aqua dest. abzuspülen und nur durch Verdunstung zu trocknen. Die Zupfpräparate dürfen nur mit spitzen Glasnadeln hergestellt werden. Ferner ist die alkoholische Alizarinlösung nicht zu schütteln und auszugießen, sondern aus der ruhig stehenden Flasche mit der Pipette abzuheben und daraus das vorher nicht fixierte Präparat zu beträufeln. Bauer hat mit dieser Reaktion Sarkome, Carzinome und ein bösartig gewordenes Papillom der Harnblase untersucht und ist zu folgender Schlußfolgerung ge-

kommen: Die Alizarinmethode deutet von selbst darauf hin, daß der Säure- und Basenhaushalt des Gesamtorganismus, sowie Einzelzelle beim Zustandekommen bösartiger Geschwülste eine Rolle spielt.

Wie ich noch später zeigen kann hat die Säure-Basenverschiebung auch bei anderen Färbungen eine große Bedeutung. Man kann sogar sagen, daß diese Tatsache bis heute das einzige positive Ergebnis ist, durch welches man dem Chemismus der Krebszelle näher gekommen ist.

Wenn nun Bauer behauptet, daß durch den Magnesiumgehalt der Zelle eine hohe Alkaleszens bedingt ist, so liegt hier ein Widerspruch zu den Ergebnissen nach der Giemsa- und Komurofärbung, die erst später behandelt werden sollen. Es bliebe nur der Ausweg übrig, anzunehmen, daß Bauer lediglich Geschwülste im älter gewordenen Stadium untersuchte und daß hier durch besondere Affinität der Zelle zu Magnesium eine hohe Alkaleszens bedingt ist.

Um die Richtigkeit der Untersuchungen Bauers sicher zu stellen, wäre es demnach von Wichtigkeit den Magnesiumgehalt der bösartigen Zellen auf einwandfreiem chemischen Wege festzustellen. Dabei ist allerdings anzunehmen, daß alle bösartigen Zellgewächse diese Reaktion liefern würden und somit keine eindeutige Unterscheidung von Carzinom und Sarkom zu treffen ist. Bauer hat in seinen Untersuchungen außer Sarkom und Carzinom andere bösartige Gewächse, sowie vor allem zum Unterschied gutartige Tumoren unberücksichtigt gelassen.

Da nun der für die Färbemethode und deren Applikationswert grundlegende Nachweis von Magnesium in der Geschwulstzelle noch nicht erbracht ist und weiterhin andere Geschwulstarten noch einer eingehenden Untersuchung mit dieser Methode bedürfen, so möchte ich hier nicht ein endgültiges Wort über die Alizarinfärbung sprechen. Doch zweifle ich daran, daß gerade eine tiefblaue Färbung der Zellen lediglich das ausschlaggebende Charakteristikum der Krebszelle sein soll. Zugegeben kann werden, daß Bauer eine Säure-Basenverschiebung feststellen konnte, daß er aber an der Intensität der Färbung die Ca-Zelle erkennen will, bestreite ich. Oft liegt der Ausfall einer Farbnuance auch in der Handhabung der Technik einer Färbemethode. Doch möchte ich die Frage über den Applikationswert dieser Methode, den zu klären eine chemische Aufgabe sein wird, noch offen lassen. Ich glaube aber nicht, daß auf diesem Wege, wenn auch der Magnesiumgehalt erhöht gefunden wird, ein eindeutiges Charakteristikum der Krebszelle gegeben ist.

4. Essigsäurepräparate:

Die Bestrebungen Denglers (6) gehen hauptsächlich dahin dem mikroskopfreudigen Praktiker eine Methode an die Hand zu geben, mittels welcher er schnell und leicht, die ohnehin symptomarme Krebskrankheit im Frühstadium erfassen kann. Seine Methode gründet sich auf Verarbeitung frischen Materials in Form von Zupfpräparaten, die vorher weder fixiert noch mit irgend einer Beize behandelt wurden. Das erforderliche Stück aus dem der Bösartigkeit verdächtigen Gewebe braucht nur hirsekorngroß zu sein, womit die Gefahren und Nachteile der übligen Probeexcision vermieden werden. Das mittels Pinzette abgezwickte und als Zupfpräparat verarbeitete Stückchen wird mit einem Deckglas versehen. Im abgeblendeten Licht und bei stärkster Vergrößerung überzeugt sich der Untersucher, ob das Präparat genügend durchsichtig ist und vom Deckglasrand her setzt er einen Tropfen 1 %iger Essigsäure zu. Das Bild wird sich bald darauf aufhellen und die Zellkerne werden sehr deutlich, besonders bei noch mehr verengter Blende.

Man sucht sich nun eine Stelle im Präparat, die annähernd gleichmäßig isoliert nebeneinander liegende Zellen zeigt und beginnt mit der Auszählung der Zellen mit auffallendem Kerngrößenunterschied. Dengler hat für die Auszählung 7 Größenunterschiede angenommen, wobei jede höhere Klasse um das 2-, 3-, 4-, 5-, 6- oder 7-fache des kleinsten gesehenen Gewebszellkernes an Größe überragt. Als vereinfachende Methode erfaßt man die Größenunterschiede ohne auf die Zellstruktur der einzelnen Kerne einzugehen. Anfangs empfiehlt es sich stets mehrere Gesichtsfelder nach den auffallendsten kleinsten und größten Formen abzusuchen, um die Variationsbreite der Kerngrößen zu überblicken. Das Zählungsergebnis wird ausgedrückt durch den Quotienten aus der Anzahl der besetzten Größenklassen durch die Gesamtzahl ausgezählter Zellen. Es liegt bei 50 ausgezählten Zellen zwischen $^3/_{50}$ und $^7/_{50}$ oder 0,06 und 0,14, für Ca stets über 0,1, meist 0,14.

Der Vorteil dieser Methode liegt in ihrer Einfachheit und lebensgetreuen Wiedergabe des Zellbildes begründet. Die Einteilung der Zellklassen erfordert natürlich einige Uebung, die sich aber bei einmaligen intensivem Studium des mikroskopischen Bildes leicht erlernen läßt.

Ich habe diese Methode der Vollständigkeit halber hier angefügt. Sie hat ohne Zweifel einen verlockenden Reiz für den Praktiker, der, wenn er zu einem sicheren Ergebnis kommen

muß, kein besseres und einfacheres Hilfsmittel finden könnte. Dazu kommt noch, daß gerade die Kerngrößenunterschiede und Kernvariabilität, bis heute ein wichtiges Kennzeichen der bösartigen Tumoren darstellt, wobei allerdings nicht vergessen werden darf, daß auch gutartige Tumoren Kernvariationen auf weisen, die nur in einem graduellen Unterschied zu den bösartigen Geschwülsten stehen. Es erscheint mir deshalb wissenschaftlich allzu schematisch, wenn man glaubt, zahlenmäßig durch Aufstellung eines sogenannten Malignogrammes zur Diagnose und sogar Prognose kommen zu können. Es wird dabei den wirklichen Verhältnissen zu wenig Rechnung getragen. Es ist ja eine alte Tatsache, daß ein und dieselbe Geschwulst an verschiedenen Stellen verschiedene histologische Bilder aufweisen kann.

Gegen all diese Bedenken aber glaube ich für den denkenden Praktiker, der schnell zu einer Diagnose kommen will, der mit dieser histologischen Methode umzugehen weiß und der besonders neben seiner histologischen Diagnose das klinische Bild seines Kranken versteht und zu beurteilen weiß und aus diesen beiden Faktoren seinen endgültigen Schluß zieht, diese einfache, wenn auch weniger wissenschaftliche Methode empfehlen zu können.

Einen positiven wissenschaftlichen Beitrag zur Spezifität der Ca-Zelle und zum Unterschied gegen das Sarkom bringt diese Methode nicht.

5. H.-E.-Färbung:

Seit Einführung des Haematoxylins in die Mikrotechnik durch Waldeyer ist es der Ausgangspunkt der wertvollsten Färbemethoden. Die vom Kliniker und Pathologen zwecks Prognose und Diagnose weitaus am häufigsten ausgeführte Methode ist die Färbung mit Haematoxylin-Eosin. Diese Methode hat den Vorteil, daß sie verhältnismäßig schnell den Untersucher das pathologische Bild des Präparates unter das Mikroskop bringt. Bei gut ausgebildeten Carcinomen, die also schon längere Zeit im Wachstum begriffen sind und infiltrierend wie destruierend das Gewebe befallen haben, ist es unschwer aus dem Uebersichtsfeld mit H-E.-Doppelfärbung das histologische Bild zu diagnostizieren. (15) Auf dem durchwegs rötlich gefärbten Schnitt heben sich die Kerne schön blau bezw. blauviolett hervor. Mit starker Vergrößerung sind die Größenunterschiede der Kerne untereinander, sowie eine Anaplasie leicht zu erkennen. Außergewöhnliche färberische Veränderungen

zeigen außerdem jedoch weder Kerne noch Plasma der Krebszellen an. Von Kernteilungsfiguren ist ferner bei älteren formolfixierten Präparaten wenig mehr zu sehen. So gute Dienste diese Färbung auch im täglichen Bedarf leisten mag, so muß man sich doch immer klar sein, daß sie keine spezifische Reaktion auf Krebszellen darstellt. Wir sehen auf dem mikroskopischen Bild lediglich Epithel und Bindegewebe gefärbt und können nur aus dem Verhalten beider bei sorgfältig durchgeführter Färbung die Ca-Diagnose erschließen. Häufig genug ist es auch schon vorgekommen, daß bei weniger gut ausgebildetem Wachstum bezw. bei praecancerösen Zuständen auf einem gefärbten Schnitt die Diagnose übersehen wurde.

Solange jedoch keine spezifische Färbung der Ca-Zelle existiert, wird diese Methode den Sieg vor allen anderen behalten, da sie den Vorteil der Einfachheit und der guten Uebersicht mit der Doppelfärbung in sich birgt. Frische und alte Schnitte färben sich dabei gleich gut. Die Erläuterung der Technik wird sich wohl erübrigen, da in allen Instituten mit dieser Färbung gearbeitet wird.

Auch für die histologische Schnelldiagnose ist die H.-E.-Färbung die zweckmäßigste Methode um zu einem Ergebnis zu kommen. Mittels heißer Formalinfixierung und kochendem Wasser werden die Präparate vorbereitet und mit H.-E. gefärbt. Die Dauer bis zur Fertigstellung des Präparates beträgt in geschickten Händen höchstens 10 Minuten, eine Zeit, die während einer Operation für Blutstillung usw. leicht verwendet werden kann. In Amerika arbeitet man mit einer Schnelldiagnose nach Wilson, die mit polychromem Methylenblau nach Unna und Eindecken mit Bruns Glukoselösung ausgeführt wird. Verschiedene Autoren jedoch geben der alten deutschen H.-E.-Schnellfärbung wegen ihrer großen Genauigkeit einen weit größeren Vorzug und lassen die amerikanische Methode, die vielleicht eine Zeitersparnis von 4 Minuten bringen würde, wegen ihrer Unsicherheit für die Diagnose außer Betracht.

Im Anschluß an die Doppelfärbung mit H.-E. möchte ich noch verschiedene andere Färbungen ähnlicher Art für die Beurteilung des Krebsbildes heranziehen. In diesem Abschnitt haben wir es nur mit Bindegewebs- und Epithelfärbungen mit den verschiedensten Farbmischungen zu tun.

Sehr bunte und übersichtsreiche Bilder liefert die von van Gieson angegebene Dreifachfärbung mit Haematoxylin-Pikrin-

säure-Säurefuchsin. Die Kerne sind braun rötlich, das übrige Bindegewebe tiefrot bis orangrot, die Muskulatur gelb gefärbt. Der Nachteil besteht in der Färbung mit Säurefuchsin, da, wenn nicht besonders sorgfältig verfahren wird, diese Färbung nach wenigen Minuten schon abzublassen beginnt.

Bei der Färbung von Schnitten nach der Heidenhein Azanmethode (11) habe ich besonders schöne instruktive Färbungen erzielen können. Diese Methode stellt eine Modifikation der von Mallory angegebenen Färbevorschrift für kollagenes Bindegewebe dar. Die Heidenhein'sche Modifikation übertrifft die Originalmethode so sehr an Schärfe, Haltbarkeit und Sicherheit des Gelingens, daß durch sie die ursprüngliche Methode als überholt bezeichnet werden kann. Auf dem gut gefärbten Schnitt sieht man das kollagene und retikuläre Bindegewebe scharf blau gefärbt und deutlich abgegrenzt von der rötlich bis orange gefärbten Muskulatur. Die Granulationen der Zellen färben sich je nach ihrer Beschaffenheit gelb, rot oder blau. Die Herstellung der Präparate ist nicht einfach und beansprucht viel Zeit.

Ferner gehört in diese Gruppe noch eine große Reihe anderer Methoden. An erster Stelle ist die Färbung mit Pikroindigocarmin von Ramon-Cajal (16) zu nennen, die auch schon von Lipschütz für cytologische Untersuchungen an Krebsgeweben verwendet worden ist Auch Färbungen mit Methylgrün-Pyronin, May-Grünwald und den verschiedenen anderen mit Haematoxylin verbundenen Farblösungen geben farbenprächtige Bilder, die alle jedoch genau so wie die H.-E.-Färbung lediglich Uebersichtsbilder bieten und jegliche Spezifität für Ca-Zellen vermissen lassen. Zwar gelingt es in gut fixiertem Gewebe (nach Held) schon im H.-E.-Präparat Einzelheiten des Zellkernes aufzufinden, jedoch entziffert erst die feuchte Giemsafärbung die besondere Struktur der Ca-Zellen.

6. Feuchte Giemsafärbung:

Von großer Bedeutung für die Erforschung der Cytologie der Krebszelle ist eine gut durchgeführte Färbung nach Giemsa. Besonders hat Lipschütz (13) mit Hilfe dieser Methode sehr beachtliche Studien an Tieren und später an Menschenmaterial zur Veröffentlichung gebracht. Wie Lipschütz über diese Methode urteilt, möge aus dem Folgenden hervorgehen: „Es hat sich bald gezeigt, daß die feuchte Giemsafärbung allen anderen Verfahren außerordentlich überlegen ist und daß sie zur Zeit die einzige Methode darstellt, die es ermöglicht, das eigenartige Strukturbild der Ca-Zelle aufzuschließen."

Da sich diese Methode auch bei meinen Versuchen als sehr günstig erwiesen hat, möchte ich die Technik unverändert nach Lipschütz kurz darstellen:

1. Fixation der Tumorstücke in Zenkerflüssigkeit
2. Einbettung in Paraffin (5 bis 6 dünne Schnitte)
3. Entquecksilberung mit Lugolscher Lösung
4. Entjodierung mit Alkohol oder $Na_2S_2O_3$
5. Färbung durch Auftropfen der konzentrierten Giemsalösung (5 Sekunden)
6. Sofort mit stark verdünnter Glyzerinäthermischung (nach Unna) entdifferenzieren, dann
7. Sofort mit destilliertem Wasser abspülen
8. Xylolazetongemische:
   a) 95 ccm Azeton 5 ccm Xylol
   b) 70 „ „ 30 „ „
   c) 30 „ „ 70 „ „
   d) reines Xylol
9. Einbetten in Cedernöl, Deckglas.

Neben der feuchten Giemsafärbung wird auch noch die länger dauernde Methode mit verdünnter Giemsalösung häufig angewandt. Jedoch beträgt die Dauer der Färbung ungefähr 18 bis 24 Stunden.

Die Behandlung mit Glyzerinäthergemisch hat den Vorteil das kollagene Bindegewebe zu entfärben, damit die Zellen und deren Struktur besser hervortreten können.

An die Brauchbarkeit einer mit Giemsalösung ausgeführten Färbung ist unbedingt das Gelingen einer guten „Plastinreaktion" gekettet.

Es drängt sich nun die Frage auf, was versteht Lipschütz unter der Plastinreaktion?

Zu ihrem Verständnis ist es erforderlich das Ergebnis der gesamten Giemsafärbung zunächst zu beschreiben:

Der Kern der meist exzentrisch liegt erscheint hell, nur die Kernmembran ist dunkelblau gefärbt, der Nucleolus erscheint häufig grünlich, die Paranucleolen dunkelblau bis schwarz, das Archoplasma ist ungefärbt (grau) reinweiß oder grauweiß bis zart rötlich, die kappenförmige Plastinreaktion dunkelviolett bis blauviolett oder tiefblau, das periphere Protoplasma hebt sich in rötlichem Farbton ab.

Für das Studium der Plastinreaktion sind nur lose und locker gewebte Geschwulstteile bezw. vollkommen isoliert liegende Zellen brauchbar, da die dicht gefügten Anteile bei erstmaliger Betrachtung ein recht verworrenes Bild darstellen. Betrachtet man nun unter Berücksichtigung dieser Voraussetzungen eine Zelle, so bietet sich dem Beschauer folgendes Bild:

Um den exzentrisch gelagerten Kern liegt eine umschriebene rundliche oder länglich gestaltete Protoplasmamasse, welche grauweiß bis eosinrot gefärbt erscheint. Dieser Anteil des Cytoplasmas ist zweifellos nach der praranucleären Lage zu schließen als Archoplasma zu bezeichnen. Mitunter ist dieses Gebilde scharf umschrieben und mit fein gezähneltem Rand versehen. Im allgemeinen erreicht es nicht die Größe des Kernes. Das besondere Kennzeichen der Krebszelle, welches Lipschütz nun an Tier- und Menschenmaterial gefunden hat, stellt die Ausbildung einer das Cytoplasma zum größten Teil ausfüllenden, plastinartigen, nach Giemsa tief dunkelblau gefärbten Masse dar, die entweder paranucleär als „Kappe" oder perinucleär als Ring auftreten kann. Die Gestalt der Kappen kann mehr flach oder gewölbt erscheinen, wobei auch das Archoplasma im Durchschnitt verschieden geformt erscheint. Wie schon berichtet, ist die Plastinreaktion nach außen hin noch von einem schmäleren oder breiteren Anteil acidophilen Protoplasmas umgeben, der ebenso wie die Plastinreaktion, sowohl bei gut erhaltenen isolierten Tier- und Menschenzellen konstant zu beobachten ist.

An Stelle der Kappenform ist oft auch ein Ersatz durch sogenannte „chromophile Körperchen" zu sehen, die besonders bei Abstumpfung des Säuregehaltes der Geschwulstzellen oder bei Umschlagen zur alkalischen Gewebsreaktion auftreten. Es kommt dann zum Schwinden der blauen Massen, wodurch die in ihnen enthaltenen „chromophilen Körperchen" sukzessive deutlicher hervortreten und schließlich allein die Kappen ersetzen.

Zum Unterschied vom Sarkom sind die Kappen beim Carcinom stärker basophil, während die chromophilen Körperchen beim Sarkom leichter darzustellen sind und größer erscheinen,

Bei Untersuchung eines sehr seltenen Naevo-Ca kam Lipschütz zu folgender Schlußfolgerung: Mehr als dies bei anderen bisher herangezogenen tierischen und menschlichen Geschwülsten der Fall war, weisen die Befunde des Naevo-Ca auch infolge der so deutlichen räumlichen Verhältnisse und der guten Ausbildung der Plastinreaktion eindringlich auf die Tatsache hin,

daß etwas „Neues“ hinzutreten muß, damit sich aus einer Normalzelle eine Geschwulstzelle entwickelt.

Den wichtigsten Teilfaktor dieser Erkenntnis glaubt Lipschütz darin erblicken zu können, daß wir nun imstande sind das für die Krebswerdung der Zelle hinzukommende maßgebende Moment optisch darzustellen und zu erfassen; als solches dürfte die Plastinreaktion des Cytoplasmas anzusprechen sein.

Es ist Lipschütz auch gelungen in allen von ihm nach cytologischen Grundsätzen untersuchten Präparaten die Plastinreaktion in einem großen Anteil der Krebszellen zu erkennen, wenn auch in den verschiedenen Geschwülsten der Ausfall der Plastinreaktion als sehr schwankend bezeichnet werden muß.

Wie bereits schon früher angeführt erscheinen die chromophilen Körperchen, als „Stegosomen“ bezeichnet, auf dem Schnitte als reinweiße oder grauweise, scharf konturierte, dicht nebeneinander gelagerte Körperchen gesetzmäßig an die Plastinreaktion gebunden. Unter welchen Umständen die Substitution der Plastinreaktion durch Stegosomen erfolgt, konnte bisher nicht genau erhoben werden. Höchstwahrscheinlich spielen hier gewisse Reaktionsänderungen des Tumorgewebes eine Rolle. In physikalischer und chemischer Beziehung dürfte den Stegosomen eine besondere noch zu erforschende Eigenschaft zukommen. Sie lassen sich weder mit Färbe- noch mit Imprägnationsverfahren darstellen und geben weder Sudan- noch Osmiumreaktion.

An den in Karyokinese begriffenen Geschwulstzellen eines Mäusesarkoms konnte Lipschütz eine tiefgehende Strukturveränderung feststellen, die einerseits im Schwinden des in den in Ruhe befindlichen benachbarten Zellen deutlich ausgebildeten Archoplasmas, anderseits in der Rückbildung der basophilen Plastinreaktion ihren optisch faßbaren Ausdruck findet. Dabei treten die Stegosomen, die wie bereits erwähnt in der Plastinreaktion gelegen sind, nur mehr deutlich hervor und lassen sich, entsprechend den einzelnen Phasen der Mitose, leicht verfolgen. Diese Befunde sind am menschlichen Material nicht leicht zu bestätigen, da weder die nötigen Voraussetzungen der Vorbehandlung noch gleichwertig geeignete Strukturverhältnisse vorliegen. Am besten scheinen noch Mammapräparate für die Untersuchungen geeignet zu sein, während Genitalgeschwülste durch Bakterienanlagerung und beginnende Cytolyse häufig für diese Beobachtungen unbrauchbar geworden sind.

Der Unterschied zwischen den eigentlichen Ca- und Sa-Zellen in der Ausbildung der Plastinreaktion ist jedoch nicht so

bedeutend, als daß man bis jetzt an ein hervorstechendes unterscheidendes Merkmal denken könnte. Als Charakteristikum der Krebszelle im Allgemeinen jedoch scheint mir die Plastinreaktion nicht nur von theoretischer sondern auch von praktischer Bedeutung zu sein.

Ebenso wie der Ausfall der Plastinreaktion durch Stegosomen ersetzt werden kann, finden wir bei eingehender Untersuchung oft im selben Schnitte Schwankungen in der Intensität einer Komponente der Giemsafärbung. Bei stärkerem Säuregehalt überwiegt der blaue Teil, bei geringerem Säuregehalt bezw. beim Vorherrschen eines alkalischen Gewebszustandes, die rote Komponente.

In meinen Präparaten zeigte sich jedoch meist ein Vorherrschen des blauen Farbtons, der besonders nach längerem Aufbewahren der Schnitte die rote Komponente so in den Hintergrund drängte, daß die Plastinreaktion kaum mehr zu erkennen war. Mit Nachdruck muß ich aber darauf hinweisen, daß in den von mir bearbeiteten menschlichen Mammatumoren die Verhältnisse für die Darstellung der Plastinreaktion nicht gerade sehr günstig waren, da ja wie ohnehin Lipschütz schon betonte, das menschliche Material bei der Darstellung der Plastinreaktion wenig zufriedenstellende Ergebnisse zeigte.

Die Herstellung der Präparate nimmt zwar mehr Zeit in Anspruch als die gewöhnlichen Methoden, doch wird durch die Deutlichkeit des Zellbildes die Mühe belohnt.

Wie bei allen bisher besprochenen Färbungen so ist und bleibt auch hier wieder die Zellpolymorphie und das infiltrierende Wachstum das Hauptkennzeichen der carzinomatösen Entartung des Gewebes. Die Ausbildung der Plastinreaktion, wenn sie überhaupt vorhanden ist und zwar am besten in carzinomatösen Exsudaten, scheint mir sicher eine hervorstechende Eigenschaft der Ca-Zelle zu sein. Da aber diese Reaktion auch bei Sarkomen und anderen bösartigen Tumoren anzutreffen ist, ist man wohl berechtigt bei ihrem Vorhandensein wenigstens mit Sicherheit die Malignität eines Prozesses zu diagnostizieren. Um darüber erfolgreich arbeiten zu können, wäre von großer Wichtigkeit, an welche Bestandteile des Archoplasmas die Plastinreaktion gebunden ist, oder ob nicht vielleicht eine Verschiebung des Säure- und Basengleichgewichtes im Archoplasma die Ursache der verschiedenen Färbbarkeit und die Ausbildung jener „Kappen“ darstellt. Ich könnte mir auch auf diese Weise die Stegosomenbildung als einen Uebergangszustand der sich

verdichtenden Säure oder Base vorstellen. Jedoch sind das lediglich Hypothesen, die zu klären wohl Angelegenheit der Chemie sein werden. Ich glaube überhaupt nach meinen Erfahrungen mit Recht sagen zu können, daß die weiteren Forschungen der Färbetechnik der Ca-Zellen einem Chemiker vorbehalten sein werden, da ich nur auf dem Wege der biologischen Chemie eine erfolgversprechende Bearbeitung dieses Gebietes sehe.

Daß die Bestrahlung mit Röntgenlicht auf diese Färbemethode einen entscheidenden Einfluß ausübt, konnte ich bei Durchsicht verschiedener Präparate nicht feststellen. Jedoch scheinen mir auch hier, wie für alle cytologischen Untersuchungen unbestrahlte Präparate die histochemischen Verhältnisse besser wiederzugeben, als die Präparate deren Zellen künstlich durch Röntgenlicht zerstört wurden.

Zusammenfassend kann ich sagen, daß die feuchte Giemsa-Färbung wohl scharfe und typische Bilder liefert, daß aber die H.-E.-Färbung wegen ihrer Einfachheit und Deutlichkeit wohl ihren Platz behaupten wird. Obwohl die feuchte Giemsafärbung für den täglichen Bedarf im Laboratorium nicht angewendet werden wird, so steht doch fest, daß wir in ihr eine Methode haben, die zur Erforschung der Krebscytologie geeignet ist und interessanten Aufschluß gibt über die Zellkerne und ihr Verhältnis zum Protoplasma.

7. Färbeverfahren nach Komuro:

Von dem Standpunkte ausgehend, daß die Haematoxylinfärbung für cyto-karyologische Untersuchungen der Krebszellen nicht günstig ist, hat Komuro (10) ein neues Verfahren bearbeitet.

Im Ganzen gibt Komuro vier verschiedene Methoden an, von denen aber nur die von ihm selbst hervorgehobene eingehender besprochen werden soll.

1. Säurefuchsin-Methylviolett 6B-Verfahren nach Komuro
2. Eosin-Methylenblau-Verfahren
3. Säurefuchsin-Methylviolett 6B-Orange G
4. Safranin-Methylviolett 6B-Orange G-Verfahren.

Das Material wird mit einem von Komuro angegebenen Fixiermittel (gesättigte Lösung von Pikrinsäure 4 Vol.-Teile, 3%iger Lösung von Kaliumbichromat 3 Vol.-Teile, und 1%ige Lösung von Chromsäure 3 Vol.-Teile) getötet.

Von den vier angegebenen Methoden wählte Komuro das Eosinmethylenblauverfahren, da es vorzüglich zur Bestimmung der sauer-alkalischen Verhältnisse der Geschwulstzellen geeignet sein soll.

Technik des Verfahrens:

Gleichzeitige Färbung mit einem Lösungsgemisch von Eosin-Methylenblau (Eosin gelb 0,5%, Methylenblau 1,0% $\overline{aa}$).

1. Lösungsgemisch v. E.—Mb 15 Min.—1 Std.
2. Methylalkohol tröpfeln
3. Alkohol. absol.
4. Differenzierung mit Eugenolum
   (unter dem Mikroskop beobachten bis Kern und Cytoplasma deutlich differenziert sind)
5. Auswaschen des Eugenolums mit Xylol 3—10 Min.
6. Xylol 30 Sek.
7. Einbetten in Kanadabalsam.

Durch Applikation dieser Färbung kann man nun erkennen, ob die Krebszellen im lebhaft wachsenden Zustande sind oder sich im altersschwachen Stadium befinden. Für die Zellforschung dürfte diese Tatsache nicht von geringem theoretischen Interesse sein.

1. Findet man eine Gruppe der mit basischen Farben tiefgefärbten Zellen, so kann man sie als solche, denen eine Vermehrungstendenz innewohnt, betrachten. Diese Zellgruppe ist auch nicht färbbar mit Eosin oder anderen saueren Farben und die Kerne zeigen bedeutende morphologische Abnormitäten.

2. Mit basischen Farben schwach gefärbte Gruppen zeigen auf altersschwache Zellen hin, die die Säurefarben gut affiziert haben. In der schwach gefärbten Krebszellgruppe findet man weder mitotische Kernteilung noch morphologische Ungewöhnlichkeiten.

3. Hyperchromatose und Hypochromatose erscheinen in ein und demselben Präparat gleichzeitig im Verlaufe eines Färbungsverfahrens. Dadurch hat man den Vorteil, mit Leichtigkeit den Charakter der Krebszellen sichtbar beurteilen zu können. Das will sagen, daß die mit den basischen Farben schwach gefärbten Krebszellen, im ganzen alkalisch erscheinend, im Zustande des Aelterwerdens sind und daß die mit demselben

Farbstoffe tiefgefärbten Zellen meistens sauere Verhältnisse zeigen und im frisch geteilten oder lebhaft wachsenden Zustand zu sein scheinen.

Nach Beobachtungen an Krebszellen verschiedener Art konnte Komuro in ihrer morphologischen Klassifikation kein ausschlaggebendes Merkmal erkennen. In der Krebsforschung ist es wichtig und von Bedeutung zu beobachten, ob sich die Krebszellen im lebhaft wachsenden, oder im älter gewordenen Zustande im Gewebe befinden. Von diesem Gesichtspunkte aus hält Komuro sein Verfahren für sehr günstig und einfach um die sauer-alkalischen Verhältnisse der Krebszellen zu bestimmen. Komuro hat seine Ergebnisse in einer Tabelle übersichtlich zusammengestellt, wobei er die Reaktion der einzelnen Bestandteile der Zellen in 3 Gruppen einordnete und zwar in eine lebhaft wachsende mit sauerer Reaktion, in eine ältergewordene mit alkalischer Reaktion, und schließlich in einen Uebergangszustand mit neutraler, schwach alkalischer oder mit schwach sauerer Reaktion.

Aus einem Vergleich dieser Methode mit der feuchten Giemsafärbung ergibt sich nun eine Tatsache, die die Methode Komuros überflüssig erscheinen läßt.

Wie ich schon bei der feuchteu Giemsafärbung feststellen konnte, traten auch hier Unterschiede und Schwankungen in der Intensität der Färbung auf. Bei stärkerem Säuregehalt überwiegte der blaue Teil, dessen Zellen wohl mit der Gruppe Komuros identisch ist, der eine Vermehrungstendenz innewohnt und die sich mit basischen Farbstoffen besonders tiefblau färbt und von Eosin nicht angegriffen wird. Ebenso ist eine Parallele zu ziehen mit den sogenannten altersschwachen Krebszellen.

Ich glaube deshalb mit Recht der feuchten Giemsafärbung den Vorzug geben zu dürfen, da sie außer diesen Zeichen der Säure-Basenverschiebung auch durch die Plastinreaktion einen wichtigen Anhaltspunkt zur Diagnose der Krebszelle bietet, während die Färbung nach Komuro ein — ich darf wohl sagen — an sich ganz uncharakteristisches Bild der Krebszelle zu geben vermag und somit einer sicheren Diagnosestellung nichts genützt ist.

Wenn ich nun weiter noch eine naheliegende Schlußfolgerung ziehe, so ist das natürlich nur eine, vielleicht sogar berechtigte, Vermutung, die erst noch eines Beweises bedarf.

Wenn ich im vorigen Kapitel auseinandersetzte, daß das Auftreten von Stegosomen in der Plastinreaktion wahrscheinlich auf einer Aenderung des Säurebasenhaushaltes in der Zelle und deren Umgebung beruht, so ist es wohl naheliegend auf eine erhöhte Alkaleszens in der Krebszelle und dementsprechend auf ein älteres Wachstumsstadium zu schließen, da ja auch die Stegosomen als sekundäres Produkt anzusehen ist.

Ohne den theoretischen Wert und das Interesse an dieser Färbung nach Komuro bestreiten zu wollen, muß ich aber doch sagen, daß Komuro den Applikationswert seiner Methode entschieden zu hoch eingeschätzt hat.

Zusammenfassung.

„Wir dienen der Warhaftigkeit und dem Fortschritt, wenn wir die Lücken und Grenzen unseres Wissens und Könnens aufsuchen", sagte einmal Borst (2) in seinem Vortrag über die histologische Erfassung und Bösartigkeit von Gewächsen.

Wenn ich nun zusammenfassend über meine Ergebnisse berichte, so sehe ich bei allen Methoden die bisher zur Krebsdiagnose verwendet wurden, mehr oder weniger große Lücken und Grenzen unserer Leistungsfähigkeit auf diesem Gebiete; denn jede Methode hat ihre Nachteile und ihre Grenzen, von besonderen Vorteilen gar nicht zu sprechen. Von den histologischen Geschwulstdiagnosen hängt Leib und Leben der Kranken ab. Es ist also wichtig festzustellen und zu prüfen, wieweit unser Können geht und an welchem Punkte unsere Forschung versagt.

Immer und immer wieder erhebt sich die Hauptfrage: Gibt es eine morphologisch erfaßbare Spezifität der malignen Geschwulstzelle?

Von den Zeiten der „geschwänzten Körperchen" Leberts, über die Cholesterinreaktion von Schultz, die Alizarinfärbung nach Bauer und die Färbung nach Komuro bis zur Plastinreaktion von Lipschütz ist eine ungeheuere, trotz vieler Enttäuschungen, unermüdliche Arbeit geleistet worden, welche auf der Suche nach der Spezifität der malignen Geschwulstzelle, bis zu dem allerfeinsten morphologischen Aufbau der Blastomzelle vorgedrungen ist. Trotz aller Bemühungen ist es aber nicht gelungen ein einwandfreies spezifisches Zeichen für die Blastomzelle zu finden. Es gibt eben keine histologisch spezifische Carzinom- und Sarkomzelle. Wichtig scheinen mir für die histologische Erfassung der Bösartigkeit die Veränderung an Kern und Protoplasma maligner Geschwülste, wie sie die feuchte Giemsafärbung zeigte. Von allen angewandten Methoden ist sie sicherlich die Beste, da sie nicht nur die Plastinreaktion liefert, sondern auch einen Einblick in den Säure-Basenhaushalt der Geschwulst bietet. Abgesehen von der

Verwendung der Säure-Basenverschiebung für die Spezifität der Krebszelle, möchte ich doch in dieser Arbeit zum erstenmal auf ihre Verwendbarkeit zur Feststellung des Grades der Bösartigkeit bezw. der „Virulenz“ — wenn ich mich so ausdrücken darf — der Krebszelle hinweisen. Es kann doch nicht gleichgültig für die Prognose sein, ob ein Blastom sich im rasch wachsenden, oder älter gewordenen, sich mehr passiv verhaltenden Wachstum befindet. Ich habe diese Unterschiede in den Abschnitten über feuchte Giemsa- und Komurofärbung klargelegt.

Als ein weiteres wichtiges Zeichen ist nicht eine gleichgerichtete Veränderung in der Variabilität der einzelnen Elemente, sondern eine Variabilität anzusehen, die sich verschieden auf Form und Färbbarkeit des Zellprotoplasmas und auf Gestalt, Größe und Chromatingehalt der Kerne bezieht. Besonders wichtig ist in morphologischer Hinsicht die Kernvariabilität, die außer bei der Giemsafärbung besonders gut bei der allgemein angewandten H.-E.-Färbung herauskommt. Da aber das Fehlen dieser Kernvariabilität nicht gegen die Malignität einer Geschwulst spricht und das Vorhandensein nur unter gewissen Voraussetzungen als Zeichen der Malignität gewertet werden darf, so kann man auch hier nicht von einem spezifischen Merkmal der Krebszelle sprechen, wiewohl hiermit gegen die Verwendbarkeit der Kernvariabilität für die Geschwulstdiagnose nichts gesagt sein soll. Auf dieser Erkenntnis der Kernvariabilität hat auch Dengler sein Essigsäureverfahren und Broders seine Einteilung der Geschwülste in 4 Grade zur Aufstellung eines Malignogrammes aufgebaut Ueber den Applikationswert dieses Verfahrens habe ich dort ausführlich berichtet

Am Anfang meiner Arbeit stellte ich fernerhin die Forderung, ein Kennzeichen für die Frühdiagnose des Krebses zu finden. Die Beantwortung dieser Frage kann ebenfalls nur in negativer Antwort ausklingen. Ebensowenig wie eine absolut sichere histologische Erfassung der Malignität des Krebses möglich ist, gibt es ein Charakteristikum des Praecancer. Es ist überhaupt gefährlich von dem Begriff des Praecancer (22) ausgehend alle Zustände und Prozesse, welche erfahrungsgemäß häufig oder selten in Krebs ausarten, als praecancerös zu bezeichnen, da es doch keinerlei Unterlagen gibt, den Krebs histologisch vorauszusagen. Borrmann (2) hat wohl recht, wenn er sagt, daß noch niemand jenen endgültigen Umschlag in die maligne Zelle gesehen, d. h. histologisch erfaßt hat. Die Möglichkeit den Praecancer durch den Nachweis von Cholesterin, wie Rondoni meinte, festzustellen, hält keiner wissen-

schaftlichen Nachprüfung stand. Auch Versuche, in die Struktur des Krebsgewebes, mit einem neuen Auflichtmikroskop von Zeiß, unter Verwendung verschieden gefärbter Scheiben, die durch Absorption von Lichtstrahlen nur ein bestimmtes Strahlenbündel durchlassen, schlugen fehl. Es war selbst mit dem stärksten Okular kein klares Bild zu erzwingen. Es sollten damit besonders frisch operierte Tumorstückchen zur Schnelldiagnose verwendet werden. Ich habe auch versucht, durch kurzes Färben der dünnen Stücke eine Kontrastwirkung zwischen Stroma und Parenchym zu erzielen, was aber ebenfalls an der Unzulänglichkeit des Mikroskopes scheiterte.

In der Darstellung des Cholesterins in Carzinomgeweben, das nur hier histologisch erfaßt werden kann, sehe ich einen weiteren wichtigen Fortschritt auf dem Gebiete der mikrochemischen Diagnostik. Ja man kann nach den Ergebnissen vieler Autoren annehmen, daß es sich um eine spezifische Reaktion der Ca-Zelle handelt, die, wenn die bereits erörterten Vorbedingungen der Bestrahlung und Ausschaltung des Neutralfettes gegeben sind, eine hervorragende Stellung in der mikroskopischen Diagnostik der Ca-Zelle einnehmen wird. Die Vervollkommnung der Technik durfte es auch leicht erreichen, daß durch Bestrahlung mit Röntgenlicht und Höhensonne die Mindestdauer der Methode auf 6 Stunden herabgedrückt werden kann, was natürlich für die Prognose eines Falles oft von großer Wichtigkeit ist.

Mein Schlußergebnis, daß es außer dem schon früher erwähnten Nachweis der Autodestruktion und der noch immer vorsichtig zu bewertenden Colesterinreaktion kein einziges, absolut sicheres, in jedem Falle zuverlässiges und demnach spezifisches Zeichen der Malignität gibt, wird niemand überraschen. Es genügt aber dabei der Befund von Zell- und Gewebsheterotopie nicht, sondern es muß auch der autodestruktive Charakter solcher Heterotopien erbracht werden. Eine durchgreifende morphologische Spezifität der malignen Zellen gibt es nicht. Durch die Kernvariabilität, Kern- und Mitosenunruhen kann die Diagnose unterstützt und der Befund mangelhafter Ausreifung des Geschwulstparenchyms erhärtet werden. Dazu kommen schließlich noch die färberischen Kennzeichen der Plastinreaktion, die, wenn vorhanden, wenigstens den Verdacht auf Carzinom erregt und im Verein mit den anderen Merkmalen das Gesamtbild des Krebses ergibt. Ferner war es mir möglich, einen weiteren wichtigen Anhaltspunkt für den Zustand der im Wachstum begriffenen Geschwulstzellen in

Form der Säure-Basenverschiebung des Krebsgewebes und ihr Verhalten zu saueren bzw. basischen Farbstoffen, je nach dem Alter des Gewebes herauszustellen.

Die Methoden nach Unna dürften vorwiegend theoretisches Interesse haben, das aber für die Praxis keinen Fortschritt bringt.

Trotz der vielen Kennzeichen, die man im Laufe der Zeit, durch zähe unermüdliche Arbeit, für die Krebszelle herausgearbeitet hat, bleibt aber immer noch ein unlösbarer Rest, der uns die Grenzen histologischer Leistungsfähigkeit vor Augen führt. Es gibt eben bis heute kein spezifisches Zeichen der Krebszelle, das weder mit chemischen noch mit färberischen Methoden erfaßt werden könnte. Vielleicht zeigt uns die genaue Erforschung des Cholesterins in der Ca-Zelle den Weg, um endgültig ein spezifisches Merkmal der Krebszelle zu erfassen.

Von noch größerer Bedeutung allerdings, als es die Erfassung des Krebses auf histologischem Gebiete ist, wird der Ausbau der Serodiagnostik des Krebses sein; denn die Blutuntersuchung wird dann viel eher auf die Spur des Krebses, besonders an inneren Organen kommen, als das Messer des Chirurgen, der dann meist schon zu spät daran ist. Vielleicht wird es der biologischen Chemie gelingen, auf anderem Wege das Geheimnis der Krebszelle zu erschließen, um das Werk zu vollenden, an dem bereits Generationen mit großer Ausdauer und Mühe, mit großen Enttäuschungen, vergeblich gearbeitet haben.

Zum Schlusse meiner Arbeit danke ich Herrn

Universitäts-Professor Dr. Wintz

für die Ueberlassung derselben und für die bereitwillige Durchsicht der Präparate.

Literaturverzeichnis.

(1) A. Bauer: Zum Chemismus der bösartigen Geschwülste (Bedeutung des Alizarins für die mikroskop. Technik). Zbl. Path. Bd. 55.

— Cholesterindarstellung mit Alizarin. Zbl. inn. Med. 1931 Nr. 26 und Nr. 29.

(2) M. Borst: Die histologische Erfassung der Bösartigkeit von Gewächsen. Z. Krebsforschung 1934/40.

(3) Burgheim und Joel: Krebs- und Lipoidstoffwechsel. Klin. Woch. Berlin 1931/9 und 1929/18.

(4) Bostroem: Das Chorionepitheliom. Beitr. z. path. Anat. und zur allgem. Pathologie 76, 293, 1927.

(5) X. Chahovitch: Beitrag zur Kenntnis der histologischen Diagnose der Geschwülste mittels histochemischer Reaktion des Cholesterins nach Schultz. 1. und 2. Mitteilung Z. Krebsforsch. 1931/34.

(6) R. Dengler: Essigsäureverfahren, Chirurgie.

(7) Fischer-Wasels: Allgemeine Geschwulstlehre, im Handbuch der normalen und path. Physiologie. Bd. 14/2.

(8) Kahlstorf: Die histologische Prognose bösartiger Geschwülste. Z. Krebsforsch. 1928/26.

(9) B. Kimmelstiehl: Erfahrungen mit der Schultzschen Cholesterinreaktion. Zbl. Path. 1925 Bd. 36.

(10) Komuro: Ueber das Verfahren einer neuen Färbemethode für Krebszellen und deren Applikationswert. Gann Tokio 1933.

(11) Heidenhain: Azanmethode, Romeis Handbuch der mikroskopischen Technik.

(12) Laznitzki: Neuere Untersuchungen über den Stoffwechsel der Carzinomzelle. Z. Krebsforsch. 1925/22.

(13) B. Lipschütz: Histologische Studien an Geschwulstzellen, 15 Mittlg., Z. Krebsforsch. 1928, 1929, 1930, 1931, 1932.

(14) Magat: Phosphatidhaushalt der Krebszelle, Z. Krebsforsch. 1930/31.

(15) Paluguay: Reifestadium des Carzinoms und Zellteilung. Z. Krebsforschg. 1925/22.

(16) Ramon y Cajal: Pikroindigocarminfärbung, Romeis.

(17) Roffo: La cholesterine de la peau. Z. Krebsforsch. 1931/33.

— La relacion de la cholesterine entre el tej'ido neo plasico y necrosado. Bol. Inst. Med. experiment. Buenos-Ayres 1932/9 Nr. 31.

(18) Gr. Roskin: Histophysiologische Studien an Geschwulstzellen. 1. und 2. Mitteilung 1925/22 und 1933/32.

(19) Schultz: Ueber Cholesterinverfettung. Zbl. Path. 1925.

— Eine Methode des Cholesterinnachweises am Gewebsschnitt. Zbl. Path. 1924 Bd. 35.

(20) Schultz u. G. Löhr: Zur Frage der Spezifität der mikrochemischen Cholesterinreaktion mit Eisessig-Schwefelsäuregemisch. Zbl. Path. 1925 Bd. 36.

(21) Stahr: Praecancer, Zur Krebsforschg. 1931/30.

(22) Rondoni: Biochemie der Zellipoide und Krebsforschg. Z. Krebsforschg, 1931/34.

(23) P. G. Unna: Sauerstofforte und Reduktionsorte, Archiv für mikr. Anatomie Bd. 87.

(24) Unna und Godoletz: Neutralviolettextra. Arch. f. mikr. Anatomie Bd. 90.

(25) Windholz: Ueber histologische Reaktionsunterschiede röntgenbestrahlter Carzinome. Klin. Woch. Berlin 1931/10.

Lebenslauf.

Am 13. Januar 1911 wurde ich als Sohn des Syndikus Ludwig Ritter und Edler von Rauffer und seiner Ehefrau Käthe, geb. Bauer, in München geboren. In Bamberg besuchte ich die Volksschule und trat 1921 in die Oberrealschule Bamberg über. Nach Ablegung der Reifeprüfung im Frühjahr 1930 immatrikulierte ich mich an der Hochschule Erlangen. Als Angehöriger der med. Fakultät verbrachte ich hier 6 Semester um im Sommer 1933 mein Studium in Wien, und das Wintersemester 1933/34 in München fortzusetzen. Den Rest meines Studiums verbrachte ich wieder in Erlangen, um im Herbst 1935 mein med. Staatsexamen abzulegen.